



# DNALyse Amplification Kit

## 快速DNA提取扩增试剂盒

目录号：CW0556S（50 preps）

CW0556M（200 preps）

保存条件：2×PCR MasterMix -20℃，其他组分室温（15-30℃）。

### 产品内容

Component	CW0556S 50 preps	CW0556M 200 preps
Buffer SA	15 mL	50 mL
2×PCR MasterMix	1 mL	4×1 mL
Proteinase K	12.5 mg	2×25mg
Proteinase K Storage Buffer	1.25 mL	2×1.25 mL

## 产品简介

本试剂盒采用独特的缓冲体系，包含了快速制备基因组DNA和PCR扩增的所有试剂，适用于从各种动植物组织、细菌中一步提取基因组DNA并用于PCR扩增。整个提取过程无需液氮研磨，无需有机溶剂抽提，无需无水乙醇沉淀，提取的DNA质量稳定。

本试剂盒提供的2×PCR MasterMix是一种兼容性强的PCR试剂，能够高效特异扩增DNA样品，该试剂包括DNA聚合酶、dNTPs、MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液、PCR反应增强剂等。具有快速简便、灵敏度高、特异性强、稳定性好等特点，特别适合于高通量的筛选。

## 实验前准备及重要注意事项

1. 向Proteinase K中加入指定用量的Proteinase K Storage Buffer使其溶解，-20℃保存。配制好的Proteinase K勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。

Cat. No.	CW0556S	CW0556M
Proteinase K Storage Buffer	0.625 mL	每支加1.25 mL

2. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量也下降。
3. 使用前请检查Buffer SA是否出现结晶或沉淀，如有结晶或沉淀出现，请将Buffer SA于56℃水浴重新溶解。
4. 本产品提供的PCR MasterMix为2×，使用时需加入模板和引物，并加入RNase-Free Water补足体积，使其浓度为1×即可进行反应。

## 操作步骤

1. 取材：

植物材料：取约**10 mg样本**于离心管（自备）中；

动物材料：取约**10 mg样本**于离心管（自备）中；

细菌：取生长状态良好的**菌液200-800 μL**于离心管（自备）中，收集菌体。

2. 加入**200 μL Buffer SA**，涡旋混匀。

**注意：如果是植物叶片和动物组织，应尽量用研磨杵研磨；如果是植物种子，应事先破碎并研细；**

**细菌、1-3mm鼠尾样本可直接涡旋裂解。**

3. 加入**10 μL Proteinase K**，混匀，56℃孵育10分钟，95℃处理5分钟。

注意：1) 如果为动物组织样本，可适当延长56°C孵育时间至30分钟；如有未完全消化的任何组织，应在下一步离心后尽量彻底去除。

2) 95°C处理时注意不要超过5分钟。

- 13,000 rpm (~17,900×g)，离心5分钟。
- 转移上清至新的离心管（自备）中，直接用于PCR扩增，或4°C或-20°C保存溶液。
- PCR扩增：

#### 1) PCR反应体系：

以下举例为常规PCR反应体系和反应条件，实际操作中应根据模板、引物结构和目的片段大小不同进行相应的改进和优化。

试剂	20 μL体系	终浓度
2×PCR MasterMix	10 μL	1×
Forward Primer, 10 μM	1 μL	0.4 μM
Reverse Primer, 10 μM	1 μL	0.4 μM
Template DNA	1-2 μL	
RNase-free Water	up to 20 μL	

注意：引物浓度请以终浓度0.2-0.6 μM作为设定范围的参考。扩增效率不高的情况下，可提高引物的浓度；发生非特异性反应时，可降低引物浓度，由此优化反应体系。

#### 2) PCR反应条件：

步骤	温度	时间	} 30-40个循环
预变性	94°C	2min	
变性	94°C	30s	
退火	55-65°C	30s	
延伸	72°C	60s	
终延伸	72°C	5min	

注意：1) 一般实验中退火温度比扩增引物的熔解温度 $T_m$ 低5°C，退火时间一般为30-60秒，无法得到理想的扩增效率时，适当降低退火温度；发生非特异性反应时，提高退火温度，由此优化反应条件。

2) 延伸时间根据所扩增的片段大小设定，本产品中所包含的Taq DNA Polymerase的扩增效率为1 kb/30s。

3) 可根据扩增产物的下游应用设定循环数。循环次数太少，扩增量不足；循环次数多，错配机率会增加，非特异性背景严重。所以，在保证产物得率的前提下，应尽量减少循环次数。

- 结果检测：反应结束后取5 μL反应产物，直接进行琼脂糖凝胶电泳检测。